Con saluti cordiali dell' Autore

Altre ricerche

SULLA

Reazione microchimica del globulo rosso

pel

Dott. Angelo Petrone
Professore ordinario di Anatomia Patologica
nella R. Università di Catania

Estratto dagli Atti della R. Accademia Medico-Chirurgica di Napoli
Anno LVI.—N. IV.

NAPOLI
TIP. ED. TOCCO & SALVIETTI
S. Pietro a Majella, 31.
1902.

Altre ricerche

SULLA

Reazione microchimica del globulo rosso

pel

Dott. Angelo Petrone
Professore ordinario di Anatomia Patologica
nella R. Università di Catania

Estratto dagli Atti della R. Accademia Medico-Chirurgica di Napoli
Anno LVI.—N. IV.

NAPOLI
TIP. ED. TOCCO & SALVIETTI
S. Pietro a Majella, 31.
1902.

Il movente di questi studi è stato la mancata costanza della reazione microchimica del ferro nei vari reperti, che io aveva ottenuto coi differenti mezzi impiegati per la modificazione strutturale del globulo rosso.

Ricordo infatti, che mentre nel sangue cavato nel liquido di Lugol, il corpicciuolo, che rappresenta la trasformazione del nucleo primitivo, si mostra sensibile alle varie reazioni del ferro, diventando bleu col ferrocianuro, nerastro coll' acido gallico ecc., non mostra invece reazioni evidenti quando si ottiene colla soluzione osmica 1:4000, col sublimato 1:1000 e via dicendo.

Maggiormente s' imponeva lo studio ulteriore, essendo restato muto alle reazioni del ferro quel reperto di cristalli che io aveva ottenuto nel nucleo ordinario o trasformato del corpuscolo rosso assoggettato all'azione dell'alcool solforico o solforoso: ed è appunto là, che avrebbero dovuto risaltare le reazioni, quando io aveva creduto che si fosse formato un composto ferrico, da cui la denominazione di reazione ferrica da me messa avanti negli studii precedenti.

E siccome il ferro indubitatamente esiste nel sangue, come è universalmente noto, ed io aveva potuto dimostrare che si può riconoscere coi reagenti soltanto nel nucleo del corpuscolo rosso, quando il sangue è estratto e modificato nel liquido di Lugol, la mancanza della reazione nei cristalli ottenuti allo stesso posto, ove

soltanto si poteva dimostrare la presenza del ferro, faceva nascere il sospetto, che con quelle sostanze impiegate si fosse sottratto il ferro: e fui invogliato dippiù allo studio pel fatto notò, che con lo stesso reagente, acido solforico, si era già chimicamente privata l' ematina del ferro, ottenendo così un composto più o meno cristallizzabile, l'ematoporfirina.

Ho trattato perciò il sangue fresco appena estratto con acido solforico, 1 in 4 di acqua distillata, ovvero con l'acqua resa satura di anidride solforosa, per vedere se nel liquido impiegato si riscontra ferro; ed ho filtrato prima il liquido per allontanare la parte corpuscolare del sangue mischiatovi, la quale resta pressochè inalterata quando si adopera la soluzione solforica, non solo sul sangue essiccato, come io già aveva notato precedentemente, ma anche sul sangue ancora fresco, fatto capitare nella stessa soluzione. Saggiando il filtrato della soluzione solforica col ferrocianuro di potassio in soluzione, e meglio in sostanza in minuti pezzettini, immediatamente si ha il colorito bleu caratteristico dei composti a massimo di ferro: è soverchio dire, ma io ho voluto saggiarlo, che tale reazione manca assolutamente nella sola soluzione solforica senza sangue, ed anche nella dissoluzione del sangue in acqua distillata; in questa ultima, pur esistendo il ferro, non reagisce affatto, neanco come composto a minimo, perchè, vuol dire, non è *ionizzato*. Facendo agire invece del ferrocianuro di potassio, il solfocianuro di potassio, si ha immediatamente il colorito rosa, anche caratteristico per scovrire il ferro. Ma se si tenta la prova col ferricianuro di potassio in soluzione o in sostanza, la reazione del ferro è negativa, almeno in primo tempo, e soltanto gradatamente si ottiene il colorito bleu, sempre però in quantità minore che col ferrocianuro.

Così si può comprovare sul sangue fresco, conservando l'integrità dei globuli, ed in poco tempo, senza aver bisogno dell' incenerazione con cui sinora si poteva mostrare la presenza del ferro nel sangue, che il ferro esiste in questo liquido vitale, e che coll'acido solforico vi si è sottratto, apparendo nel reagente impiegato coi caratteri di un composto a massimo.

Dal filtrato invece della miscela di sangue nella soluzione di anidride solforosa, che si potrebbe anche non filtrare, perchè in essa si dissolvono i globuli, non si ha alcuna reazione che dimostra la presenza del ferro col ferrocianuro di potassio: se invece si aggiunge il ferricianuro, immediatamente si ha il colorito bleu carat-

teristico dei composti a minimo di ferro. In modo che anche coll' anidride solforosa si sottrae il ferro dall' ematina, ma il nuovo prodotto che si forma mostra i caratteri dei composti a minimo di ferro: e questo risultato, tenendo conto dell'azione dissossidante dell'anidride solforosa, renderebbe plausibile, che il composto ossidato di ferro si trova nell'ematina allo stato *ferrico* e non allo stato *ferroso*; fatto non ancora assodato in chimica biologica, ed a cui questi risultati potrebbero contribuire per una soluzione definitiva.

Dopo tali fatti mi è sembrato veder più chiaro nel reperto di quei cristalli ottenuti con gli stessi reagenti sul sangue fissato per semplice essiccamento, nel quale, grazie all' azione fissante dell' alcool assoluto, tutto resta al suo posto nel globulo rosso di cui si conserva anche la forma: soltanto il ferro è sottratto all' ematina dall'anidride solforica o solforosa; e nel sito, ove si trova l'ematina, resta questa senza il ferro, mostrandosi con quei cristalli che probabilmente sono di ematoporfirina. Con questi risultati mi è parso che si avvalorino le mie ricerche precedenti, stantechè se quei cristalli che io riteneva ferrici, non hanno ferro, mostrano invece il sito, ove soltanto era il ferro e quindi l'ematina: l' emoglobina in gran parte resta al suo posto, come si può dimostrare con la colorazione all' eosina, ed almeno finora non si è potuto dimostrare in essa presenza del ferro, supponendosi ciò soltanto dopo il risultato dell'incenerazione, nel cui prodotto si mescolano le varie sostanze contenute nelle diverse parti dei globuli: coll'incenerazione del sangue si ottiene il ferro, ma finora si può dire che il ferro certo è soltanto quello che proviene da una parte della sostanza nucleare, la quale dietro l'azione dei reagenti ossidati di solfo si libera del ferro, lasciando in sito quei cristalli speciali.

Ed ho creduto far rilevare questo, perchè così dovrebbe restare anche il valore che io dava ai risultati ottenuti sul sangue alterato, come nella clorosi, ecc.; quando la grande scarsezza del reperto di quei cristalli indica sempre la povertà dell' ematina e quindi anche del ferro sottratto dai reagenti: insomma se il cristallo non ha il significato del composto ferrico che si forma, dinota la sostanza che conteneva ferro e quindi la presenza e quantità di quei cristalli hanno sempre lo stesso valore quantitativo pel ferro.

Questi risultati potrebbero portare delle modifiche profonde sul valore dell' ematina in rapporto all' emoglobina, e su tutto il lavorio intimo che si avvera nel corpuscolo rosso: io per ora mi

sono creduto nel dovere di esporre i risultati da me ottenuti per quanto potranno contribuire ad illuminare sì difficili problemi.

La migliore soluzione solforica acquosa mi è riuscita quella al titolo di 1 su 4 di acqua: così il sangue è conservato nella sua parte corpuscolare: l'acido solforico in sostanza non fa apparire la reazione del ferro quando vi si mescola il sangue: la reazione però vi appare se vi si aggiunge dell'acqua.

Quanto più sangue si mette nel solvente, tanto più rapida e forte è la reazione del ferro nel liquido filtrato: e la stessa reazione si fa più imponente quanto più tempo si fa restare la miscela: così a parità di condizioni, la reazione del ferro è positiva dopo pochi minuti, ma non forte; mentre dopo parecchie ore e specialmente dopo un giorno, filtrando la miscela, la reazione appare intensa: chiaramente ciò dipende dalla dissociazione lenta e successiva del ferro per opera del reagente impiegato.

Per comprovare come i cristalli che si ottengono nel nucleo sieno di ematoporfirina ho trattato i preparati così ottenuti con gli alcali concentrati, potassa, ammoniaca, e realmente, come già si conosce per i granuli e cristalli di ematoporfina, si sciolgono: con le soluzioni acide si sciolgono anche, ma molto lentamente: col calore forte non si alterano di forma, ma diventano molto più bruni: ciò nei preparati microscopici ottenuti coll' alcool solforico, o solforoso, per cui forse la differenza da ciò che è conosciuto per i prodotti ematoporfirinici, i quali si alterano profondamente col calore.

In seguito a tali risultati ho continuato lo studio allo stesso modo e col medesimo intento con soluzioni di altre sostanze, principalmente di acidi.

Riassumerò come in un quadro i risultati.

Sangue fresco di uomo appena estratto, mescolato con

Acido nitrico 1 su 4 di H_2O—Reaz. di composto di ferro—	a *massimo*, meno del solforico.
Acido cloridrico idem	a *massimo*, meno del nitrico.
Acido acetico idem	a *minimo*.
Acido nitroso, soluzione satura acquosa	a *minimo*, reazione forte.
Acido citrico, 1 su 4 di H_2O	a *massimo*, molto forte, forse più del solforico.
Acido tartarico idem	a *massimo*, reaz. forte.
Acido lattico idem	a *minimo*.
Acido picrico, soluzione satura acquosa	a *minimo*.
Acido tannico, 1 su 4 di H_2O	a *minimo*.
Acido gallico, soluzione acquosa satura a freddo	a *minimo*.
Acido pirogallico, 1 su 4 di H_2O	a *minimo*.
Acido osmico, 1 su 1000	a *minimo*.
Acido arsenioso, soluzione satura acquosa	a *minimo*.
Acido borico, soluzione satura a freddo	a *minimo*, reazione lieve.
Idrogeno solforato, soluzione satura acquosa	Nessuna reazione a *minimo* o a *massimo*.
Iodo (liquido di Lugol)	a *minimo*, reazione lieve.
Cloro (acqua di cloro)	a *minimo*, reazione lieve.

Dove si è trovata la reazione a minimo, quella a massimo è mancata; dove si è trovata quella a massimo, quella a minimo non appare in primo tempo, ma solo più tardi.

Nella maggior parte di queste miscele il colorito del sangue diventa giallo-brunastro sporco, specialmente nell' idrogeno solforato: si conserva rosso nell' acido borico, anche nel tannico, nel liquido di Lugol; diventa ancora più rosso vivo del naturale nella soluzione di acido arsenioso.

In seguito ho voluto ritentare la prova con la soluzione tenuissima di buona parte di questi reagenti in alcool assoluto, assoggettandovi lo straterello di sangue semplicemente essiccato sul covroggetti, pel possibile reperto dei cristalli, come si ottiene con l'alcool solforico o solforoso.

Il risultato è stato negativo con l'acido nitrico, col cloridrico, coll' acetico, così come mi era risultato nei tentativi fatti qualche anno addietro; e devo aggiungere di aver modificato in varii modi la prova, crescendo o diminuendo variamente la dose dell' acido: finora però non sono riuscito ad ottenere i cristalli; mentre si ottiene anche con le dosi più attenuate del reagente emolisi, come p. e. con l'acido cloridrico 1:100000.

Dall' altra parte ricordando, che l' acido *citrico* ed il *tartarico* agendo sull' ematina sottraggono anche essi il ferro quando sono allo stato di ebollizione, dando il risultato dell' ematoporfirina; ed anche pel fatto da me ottenuto della forte reazione a massimo di ferro per mezzo delle soluzioni acquose concentrate di questi due acidi sul sangue fresco, ho tentato la prova sullo stratarello di sangue essiccato coll' alcool assoluto *citrico*, ovvero col *tartarico*, essendo questi due acidi molto solubili nell'alcool: e con vera soddisfazione ho ottenuto il reperto dei cristalli nel nucleo, come con l'acido solforico, e col solforoso.

La migliore soluzione pel citrico è riuscita quella di 1 a 2000 di alcool, e di 1 : 4000 quella di acido tartarico: i preparati però vi devono restare per un tempo maggiore, almeno 5 a 6 ore, anche 24.

Dopo questi risultati a me pare dimostrato, in modo sicuro e positivo, che *l'ematina privata del ferro cristallizza e che il suo posto è nel nucleo.* Forse più tardi ciò si otterrà anche con altri acidi: per ora tutto vien comprovato anche dall'acido citrico e dal tartarico, coi quali si conferma il valore di *reazione intima* del reperto dei cristalli in parola, e si rende sempre più probabile, che sieno di ematoporfirina; ciò che potrà essere anche comprovato dalle ricerche goniometriche e spettroscopiche.

Napoli 30 novembre 1902.